

学位授与番号	医博乙第1459号
学位授与年月日	平成10年7月1日
氏名	金子 二 久
学位論文題目	CYTIDINE KINASE : A NOVEL PYRIMIDINE RIBONUCLEOSIDE PHOSPHORYLATING ENZYME IN ESCHERICHIA COLI
論文審査委員	主 査 教 授 福 田 龍 二 副 査 教 授 中 村 信 一 教 授 吉 本 谷 博

## 内容の要旨及び審査の結果の要旨

ピリミジンリボヌクレオチドの生合成経路は(1)de novo合成経路と(2)サルベージ経路の二経路からなる。従来、後者の最終段階すなわちリボヌクレオシドのリン酸化によるリボヌクレオチド生成は「ウリジンキナーゼ」(EC番号2. 7. 1. 48) という一種の酵素でのみ触媒されると考えられてきたが、本研究で筆者は、シトシンリボヌクレオシドを選択的にリン酸化する新しい酵素を大腸菌から分離・精製し、その生化学的性質を明らかにした。以下に精製過程の概略と得られた成績の要約を示す。

1. シチジンデアミナーゼ欠損大腸菌株Y70-272の超音波ホモジェネートをホスホセルロースカラムクロマトグラフィーにかけると、吸着-塩溶出される既知のウリジンキナーゼ活性以外に、シトシンリボヌクレオシドをリン酸化する活性が非吸着画分に回収された。
2. この画分をDEAEセルロースクロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィー、CMP-アガロースアフィニティクロマトグラフィーで順次精製し、最終的にポリアクリルアミドゲル電気泳動(以下、PAGE) -銀染色上単一バンドを示す酵素標品を得た。
3. 精製酵素の分子量は、ゲル濾過法で約8万、還元PAGEでは約4.3万であった。したがって、本酵素はホモダイマーとして機能するものと推定された。
4. 本酵素は熱安定性が高く、活性発現には2価陽イオンの存在を必要とした。リン酸化促進活性は $Mg^{2+}$ が最強で、以下 $Mn^{2+} > Co^{2+} \gg Ca^{2+} > Cu^{2+}$ の順であった。
5. リン酸化基質としてはシチジンが最も高親和性で、 $K_m$ は0.15mMであった。ウリジンに対する $K_m$ は1.2mMと高値を示した。
6. GTPが最も高いリン酸供与体活性を示し、 $dGTP \gg ATP > dATP$ がこれに続いた。
7. 本酵素が触媒するヌクレオシドリン酸化反応はCTPでフィードバック阻害された。
8. 本酵素は、平行して分離したEC. 2. 7. 1. 48酵素と(1)ホスホセルロースへの吸着性、(2)分子量、(3)基質特異性、(4)リン酸供与体選択性、(5)フィードバック阻害様式等において異なり、ピリミジンキナーゼの新しい分子種と考えられた。
9. 筆者は、本酵素を「シチジンキナーゼ」と命名した。

本酵素発見の意義は、従来ウラシル側に偏向して考えられる傾向にあったピリミジンヌクレオチド生合成系に関して、新しいシトシンヌクレオチド合成経路の存在を見出し、RNAならびにDNA前駆体ヌクレオチドの細胞内バランスを維持するための新しい制御機構を明らかにしたことである。

本研究は、ヌクレオシドならびにヌクレオチド研究に寄与する価値ある研究と評価され、学位に値すると判断された。